

間接免疫螢光法을 利用한 熟成中 食肉의 軟化定度 測定

안 동 현

부산공업대학교 식품공학과

Measurement of Meat Tenderization during Post-mortem Aging by the Indirect Immunofluorescence Method

Dong-Hyun Ahn

Department of Food Engineering, Pusan National University of Technology

Abstract

The relationship between the myofibrillar fragmentation and zeugmatin during post-mortem aging was investigated by indirect immunofluorescence method using antizeugmatin antiserum as a measure of meat tenderization. The antizeugmatin antiserum was prepared using bands separated by SDS-PAGE and reacted specifically with zeugmatin, showing no cross-reactivity with the other myofibrillar proteins. By the indirect immunofluorescence method, this antiserum stained the fresh myofibrillar. However, the fluorescence intensity decreased with post-mortem time and almost disappeared within 24 hr of storage, in parallel with the myofibrillar fragmentation. It was therefore concluded that zeugmatin can be conveniently used as a measure of meat tenderization during post-mortem aging by immunofluorescence method.

Key words: meat tenderization, post-mortem aging, indirect immunofluorescence method, zeugmatin, Z-line

서 론

식육은 인류에 있어 동물성 단백질의 주 공급원으로서 오랫동안 이용되어 왔다. 동물성 단백질은 인간이 생명을 유지하기 위해, 활동과 사고 및 종족보존을 위한 여러가지 생리적 면에서 절대적으로 필요한 영양소이다. 현재 우리가 식육으로서 주로 이용하고 있는 가축 및 가금의 골격근은 약 20%의 단백질을 함유하고 있는데, 그중 30%는 세포액 중에 존재하는 근장 단백질, 10%는 결합조직 단백질 그리고 60%는 골격근의 수축과 이완을 담당하는 근원섬유 단백질로 이루어져 있다⁽¹⁾. 한편, 식육의 품질을 결정하는 인자는 물성, 보수성 혹은 다즙성, 맛, 향 및 색조로 크게 나눌 수 있는데 그 중에서도 물성은 가장 중요한 요인이다⁽²⁾. 물성 중에서도 연도가 가장 중요한 요인으로⁽³⁾ 소비자들은 주로 부드러운 식육을 요구한다. 연도는 근육조직 구성성분의 역학적 성질의 반영으로, 여기에 직접 영향을 끼치는 것으로는 주로 단백질로 이루어진

근원섬유와 결합조직이 있다. 가축 및 가금의 골격근은 비생리적 조건하에서 여러가지 생화학적 반응을 거쳐 강직을 일으키고, 더욱 시간이 경과하면 부드럽게 된다. 가축을 도살한 후 연도와 풍미가 개선되어 양질의 식육으로서 이용이 가능하도록 일정기간 저장하는 것을 숙성이라고 한다. 숙성중에 일어나는 식육의 연화에 관여하는 요인으로는 결합조직의 변화⁽⁴⁾와 근원섬유의 구조변화가 알려져 있으나, 주로 근원섬유의 구성성분 및 구조의 변화가 큰 비중을 차지하고 있다. 현재까지 actin, myosin 간의 강직결합의 해제⁽⁵⁾, connectin filament^(6,8) 및 nebulin filament의 약화⁽⁹⁾ 그리고 Z선 구조의 약화^(10,12)가 숙성에 따른 근원섬유 구조의 변화로서 알려져 있다. 그중 Z선 구조의 약화가 가장 주된 요인으로 알려져 있다^(13,15). 숙성이 진행된 식육의 근원섬유는 물리적 충격에 의해 소편화 하는데⁽¹⁰⁾, 이것은 인간이 식육을 먹을때 저작에 대응하는 homogenize라고 하는 물리적 충격을 가함에 따라 근원섬유가 소편으로 되는 것을 의미하고 있어, 근원섬유의 소편화도는 식육의 연도와 밀접한 관련이 있음이 밝혀져서^(13,14,16) 식육숙성도의 지표로서도 이용되었다⁽¹⁷⁾. Z선은 근원섬유의 입체적, 주기적 구조를 유지하는 역

Corresponding author: Dong-Hyun Ahn, Department of Food Engineering, Pusan National University of Technology

활과 근육이 수축할 때 sarcomere에서 발생한 장력을 이웃한 sarcomere 및 근원섬유 전체에 전달하는 중요한 역할을 하고 있다. Z선의 구조는 골격구조를 이루고 있는 Z-filament와 그 사이와 주변을 이루고 있는 무정형물질로 구성되어 있는데^(18,19), Z-filament를 이루는 주성분은 α -actinin으로 밝혀져 있으나^(18,20) 무정형물질의 성분에 대해서는 아직 확실하게 알려져 있지 않다. 근원섬유 Z선에는 수많은 성분이 존재하고 있음이 밝혀져 있다. α -actinin 이외에도 Z-protein⁽²¹⁾, eu-actinin⁽²²⁾, glycogen phosphorylase b⁽²³⁾, β -actinin(Cap Z)⁽²⁴⁾, α -crystallin⁽²⁵⁾, 그리고 desmin⁽²⁶⁾, vimentin⁽²⁷⁾, syne-min⁽²⁸⁾ 등의 중간경 filament, filamin⁽²⁹⁾ 및 zeugmatin⁽³⁰⁾이 동정되어 있다. 그리고 최근에는 인지질의 존재도 밝혀졌다⁽³¹⁾. 이들 성분 중에서 α -actinin은 식육의 숙성중 거의 양적인 변화를 보이지 않는 것으로 알려졌으나, 다른 성분들에 대해서는 거의 연구되어 있지 않다. 한편, zeugmatin은 세포내외의 접착에 관여하는 성분으로 근원섬유의 Z선에도 존재하고 있으며 쉽게 변성하는 성질을 지니고 있다고 알려져 있다⁽³⁰⁾. 지금까지의 보고에서는 숙성에 따른 식육의 연화를 근원섬유 단백질의 숙성중 성분변화 측면에서 연구한 것은 있으나, Z선 구성단백질의 숙성중 변화에 대해 연구한 것은 거의 없으며 또한 이러한 성분의 변화를 이용하여 식육의 숙성도를 측정하는 연구는 전무한 실정이다.

본 연구에서는 숙성중 일어나는 식육의 연화정도를 근원섬유단백질의 변화로서 파악하기 위하여, 근원섬유 구조 중에서 숙성중 식육의 연화정도를 파악하는 지표로 이용되는 Z선의 구성단백질에 주목하였으며, 그 중에서도 비교적 빨리 변화한다고 알려진 zeugmatin⁽³⁰⁾의 항체를 조제, 간접면역형광법을 이용하여, 숙성중 일어나는 식육의 연화정도를 측정할 수 있는 척도로서 사용할 수 있는지의 여부를 알아 보았다.

재료 및 방법

Zeugmatin함유 획분의 조제

본 실험에는 35주령의 Rhod Island Red종의 흉근(*M. longissimus dorsi*)을 이용했다. Zeugmatin함유 획분의 조제는 Maher 등의 방법⁽³⁰⁾에 따라 행했다. 즉, 성체의 흉근 50 g을 신속하게 채취하여, 저온하에서 지방 및 결합조직을 제거한 후 8배량의 PRB용액(0.1 M KCl, 2 mM MgCl₂, 2 mM EGTA, 1 mM DTT, 2 mM Na₂P₂O₇, 1 mM NaN₃, 10 mM Tris-maleic acid buffer, pH 6.8)을 첨가해서 15초간 균질화했다. 1분간 방치 후 동일한 과정을 3회 반복했다. 현탁액을 3,500 rpm으로

15분간 원심분리한 뒤 침전에 8배량의 저 이온강도 용액(0.1 M KCl, 2 mM MgCl₂, 5 mM EGTA, 10 mM Tris-maleic acid buffer, pH 6.8, 0.5 mM DTT, 0.1 mM PMSF)을 첨가해 현탁한 후 3,500 rpm으로 15분간 원심분리했다. 이 조작을 4회 반복한 후, 침전에 0.5% Triton X-100을 포함하는 동용액을 첨가하여 10분간 교반해서 3,500 rpm으로 15분간 원심분리한 후, Triton X-100이 포함되지 않은 동용액으로 3회, 동일한 조건하에서 세정하여 근원섬유를 조제했다. 근원섬유의 침전물에 8배량의 수정한 Hasselbach-Schneider용액(0.5 M KCl, 2 mM MgCl₂, 2 mM Na₂P₂O₇, 0.1 M NaH₂PO₄, 5 mM EGTA, 1 mM DTT, 0.1 M PMSF, pH 6.8)을 첨가하여 30분간 교반한 후 5,200 rpm으로 15분간 원심분리했다. 이 조작을 한번 더 행한 후, 침전에 4배량의 KI용액(0.6 M KI, 20 mM Na₂S₂O₅, 20 mM Tris-HCl buffer, 5 mM EGTA, 0.1 mM PMSF, pH 7.5)을 첨가해 하룻밤 교반했다. 36,000 rpm으로 1시간 원심분리하여 그 상정액을 zeugmatin함유 획분으로 했다. 이것을 5 mM Tris-HCl buffer (pH 8.0), 5 mM EDTA, 0.1 mM PMSF로 이루어진 용액에 대해 하룻밤 투석한 다음, SDS처리하여 전기영동을 행했다.

항 혈청의 조제

SDS처리된 zeugmatin함유 획분을 2-12%의 Polyacrylamide gradient gel 전기영동에 공시했다. 전기영동 후 0.2%의 CBB-R 250, 7% acetic acid로 이루어진 용액으로 염색하여 7% acetic acid로 탈색한 다음 zeugmatin의 band를 잘라내었다. 단백질량으로 약 0.5 mg이 되도록 gel의 band부분을 모아 세절한 다음 PBS (75 mM NaCl, 5 mM sodium phosphate buffer, pH 7.2)로 10분간 4회 반복해서 세정했다. 세절한 gel 조각을 연결 주사기 내에서 분쇄하여 실험용 토끼(일본 백색종, 체중 1.8 kg, 암컷)의 등피하에 수개소 나누어 2주 간격으로 3회 주사하였다. 항체의 역가가 최대로 되었을 때 채혈한 뒤 실온에서 30분간 정치한 다음 4°C에서 하룻밤 정치해 두었다. 원심분리(10,000 rpm, 20분)하여 항 혈청을 회수한 후 -85°C로 동결보존했다. 항 닭zeugmatin항체는, 간접면역형광법의 1차 항체로서는 PBS로 75배, immunoblot법의 1차 항체로서는 TBS (0.15 M NaCl, 20 mM Tris-HCl buffer, pH 7.5)로 1,000배로 희석해서 사용했다. 간접면역형광법의 2차 항체는, FITC표식 항 토끼IgG산양항체(Cappel사제)를 PBS로 75배 희석해서 사용했다. Immunoblot법의 2차 항체는 EIA grade peroxidase표식 항 토끼IgG산양항체(Bio-Rad사제)를 TBS로 2,000배 희석해서

사용했다.

닭의 항 zeugmatin 항혈청의 특이성 검정

Zeugmatin 함유 획분을 2-12% polyacrylamide gradient gel을 이용하여 전기영동을 행한 다음 Western blotting법⁽³²⁾에 의해, 25 mM Tris, 0.192 M glycine, 20% ethanol, 1% SDS로 된 전사완충액을 사용하여 단백질을 nitrocellulose막(Bio-Rad사제) 및 PVDF막(Bio-Rad사제)에, 150 mA에 5시간 전사했다. 탈 이온수로 막의 양면을 충분히 세정한 다음 nitrocellulose막은 실온에서 건조하여 여과지에 끼워, PVDF막은 TBS에 담구어 4°C에서 보존했다. 면역 반응은 다음과 같이 행했다. 10%의 탈지분유를 포함하는 TBS (0.15 M NaCl, 20 mM Tris-HCl Buffer, pH 7.5)중에서 1시간 blocking한 다음, 0.05%의 Tween-20을 포함한 TBS (T-TBS)로 희석한 항체를 3시간이상 반응시켜 T-TBS로 5분간 3회 세정했다. 그 다음, T-TBS로 2,000배 희석한 peroxidase표식 항 토끼IgG산양항체 (Bio-Rad사제)를 실온에서 90분간 반응시킨 후, T-TBS로 3회, 그 다음 종류수로 3회 세정했다. 발색은, 50 mM sodium phosphate buffer (pH 7.5), 0.3% CoCl₂, 0.3% (NH₄)₂Ni(SO₄)₂·6H₂O를 포함하는 DAB (3,3-diaminobenzen-4HCl) peroxidase기질 용액으로 행했다.

근원섬유의 조제

성계의 심흉근을 적당량 채취하여 Etlinger의 방법⁽³³⁾을 일부 수정하여 근원섬유를 조제했다. 즉, 7.5배의 PRB용액을 첨가해 10,000 rpm, 1분간 균질화한 후 3,000 rpm으로 10분간 원심분리했다. 침전물에 7.5배량의 0.1 M KCl, 5 mM EDTA, 1 mM DTT, 1 mM NaN₃, 10 mM Tris-maleic acid buffer, pH 7.0으로 이루어진 용액을 첨가하여 10,000 rpm, 5초간 균질화한 다음 3,000 rpm에서 10분간 원심분리했다. 이 조작을 5회 반복한 후 여과하여 근원섬유로 하였다.

간접면역형광법

Coons 등의 방법⁽³⁴⁾에 의해 행했다. 조제한 근원섬유를 PBS로 희석한 후, Slide glass에 소량 떨어뜨린 다음 cover glass로 덮어 10분간 정치했다. PBS로 세정한 다음 같은 용액으로 75배 희석한 항 혈청 및 10배 희석한 IgG를 반응시켜 실온에서 30분간 정치했다. PBS로 세정한 다음 동용액으로 75배 희석한 FITC표식 토끼IgG산양항체를 반응시켜 10분간 정치했다. PBS로 세정한 다음, 0.5% β-mercaptoethanol을 함유하는 PBS로 세정한 다음 낙차 형광현미경(Olympus사

제, model BH2-RFL)을 이용해, 위상차 및 형광현미경상을 관찰했다.

공초점레이저주사현미경에 의한 존재위치 관찰 및 형광강도의 측정

형광표식한 근원섬유를 공초점 레이저 주사 현미경(Bio-Rad사제, MRC-500J, 광원; Algon Ion)으로 White 등의 방법⁽³⁵⁾에 의해 관찰했다. 형광강도는 근원섬유를 각각 50개씩 관찰하여 그 평균치로 나타내었다. 각각의 근원섬유로부터 4개의 sarcomere를 선택해 장축 방향으로 광선을 주사시켜 형광으로 인한 peak가 나타내는 강도를 평균하여 각 근원섬유의 형광강도로 했다. 형광강도의 상대치는 현미경 장치가 측정 가능한 최대치를 400으로 하고 최소치를 0으로 했다.

근원섬유 Z선의 약화도 측정

성계를 도살하여 흉근을 빼에 붙여둔 채로 4°C에 위생적으로 저장하면서 경시적으로 시료를 채취하여 Takahashi 등의 방법⁽¹⁰⁾에 의해 Z선의 강도를 측정했다. Z선의 약화정도는 근원섬유 500개를 관찰하여 1-4개의 sarcomere로 이루어진 근원섬유 소편의 수[F]의, 전 근원섬유수[Σ]에 대한 비율([F]/[Σ])로 나타냈다.

단백질농도의 측정

단백질농도는 Biuret법⁽³⁶⁾에 의해 Hitachi사제의 흡광도계(U-3210)에서 550 nm의 파장으로 측정했다.

결과 및 고찰

항 zeugmatin 항체의 조제

Zeugmatin에 대한 항체를 조제하기 위해 우선 닭의 흉근으로부터 zeugmatin 함유 획분을 조제했다(Fig. 1). Etlinger의 방법⁽³³⁾에 의해 근원섬유를 조제하여(a), 고염농도의 용액으로 myosin을 제거한 다음(b), 그 침전(c)을 0.6 M KI를 포함하는 용액으로 추출하여, 그 상정액을 zeugmatin 함유 획분(d)으로 했다. 이 상정액을 2-12%의 SDS-PAGE를 행한 결과 영동상에 nebulin보다 약간 상부에 2개의 band로 zeugmatin이 나타났으며, 이 두 band를 이용해서 항체를 조제했다. 신선한 근원섬유와 zeugmatin 함유 획분을 이용해서 immunoblot법으로 항 혈청의 특이성을 검정한 결과(Fig. 2), 신선한 근원섬유에 있어서는 gel상에서 zeugmatin의 band는 거의 보이지 않았으나(a), 항 zeugmatin 항체는 약하게 반응하였고 connectin과 nebulin과는 교차

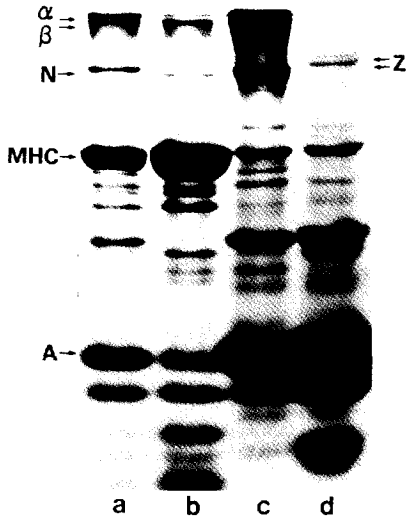


Fig. 1. Separation of zeugmatin fraction Lane a, control myofibrils; lane b, supernatant solutions and lane c, residues obtained by the extraction of myofibrils with a modified Hasselbach-Schneider solution; lane d, crude zeugmatin fraction obtained extraction lane c with a KI solution; α , α -connectin; β , β -connectin; N, nebulin; MHC, myosin heavy chain; A, actin; Z, zeugmatin

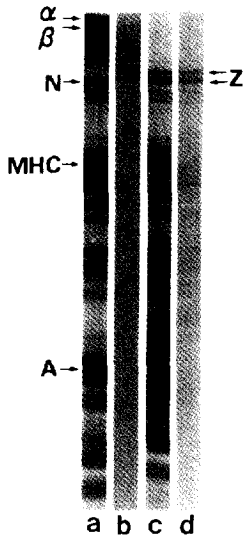


Fig. 2. Immunological characterization of antizeugmatin antiserum Lane a, myofibrillar proteins separated by SDS-PAGE were transferred onto a nitrocellulose membrane and then stained with Coomassie Brilliant Blue R-250; lane b, the nitrocellulose membrane of lane a was treated with antizeugmatin antiserum followed by goat anti-rabbit IgG; lane c, crude zeugmatin fraction was treated the same as lane a; lane d, the nitrocellulose membrane of lane c was treated the same as lane b; α , α -connectin; β , β -connectin; N, nebulin; MHC, myosin heavy chain; A, actin; Z, zeugmatin

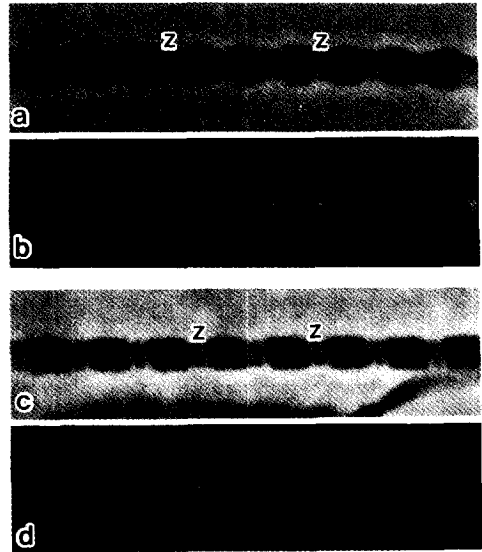


Fig. 3. Existence of zeugmatin in the Z-disk region a and c, chicken breast muscle myofibrils; b, α -actinin; d, zeugmatin; a and c, phase-contrast image; b and d, immunofluorescent image

반응하지 않았다(b). 또, zeugmatin함유 획분(c)에서는 항 zeugmatin항체가 강하게 zeugmatin과 반응하여(d), 이 혈청을 zeugmatin에 특이적인 항 닭zeugmatin항혈청으로서 이용했다. 이 항체를 이용하여 근원섬유에 있어서의 zeugmatin의 존재위치를 알아 보았다(Fig. 3). 비교하기 위해서 이미 Z선에 존재하고 있다고 알려진 α -actinin도 항체를 이용하여 같이 관찰하였다. 조제한 이완상태의 근원섬유를 각각의 항체로 처리하여 간접면역형광법으로 관찰한 결과, zeugmatin(b)도 α -actinin(a)과 같이 Z선에만 존재하고 있음이 밝혀졌다. Maher 등은 zeugmatin이 정제과정에서 변성하기 쉽기 때문에 특수한 방법으로 이 단백질을 정제했다⁽³⁰⁾. 그러므로 재래식의 방법으로 이 단백질을 정제하여 항체를 조제하는 일은 불가능하여 빠른 시간내에 이 단백질을 포함하는 획분을 조제, 이것을 전기영동으로 전개한 다음, 해당하는 band를 이용하여 polyclonal항체를 만드는 이 방법이 가장 손쉬운 방법이 었다.

숙성에 따른 식육의 연화와 zeugmatin의 관련

Zeugmatin이 숙성중 일어나는 식육연화의 정도를 판단하는 척도로서 이용될 수 있는 지의 여부를 알아 보기 위해, 식육 숙성도의 지표로서 이용되고 있는 근원섬유의 소편화 즉, Z선구조의 약화도와 zeugmatin의 성분변화 간의 상관관계를 알아 보았다. 성계의 흥

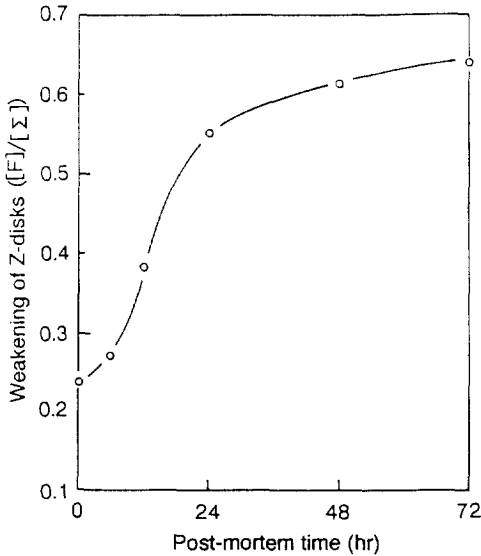


Fig. 4. Post-mortem changes in the weakening of Z-disks

근을 4°C에서 저장, 숙성하면서 근원섬유의 소편화도를 측정된 결과(Fig. 4), 숙성이 진행됨에 따라 Z선이 약화되어 근원섬유가 소편화되었는데 그 경향은 도살 후 6시간까지는 그다지 변화하지 않았으나 6시간에서 24시간 사이에 급격히 변화하였고 그 이후에는 크게 변화하지 않았다. 이는 Z선의 구조가 도살 후 6시간까지는 큰 변화를 보이지 않다가 6시간 이후에 급격히 약화되는 것으로 이 때에 Z선에 존재하는 구성성분이 급격히 변화한 것으로 볼 수 있다. 하지만 Z선의 주성분으로 알려진 α -actinin은 그다지 변화하지 않음이 밝혀져 있다⁽⁹⁾. 그렇다면 Z선의 골격을 이루고 있는 α -actinin 이외에 다른 구성단백질의 변화에 의한 것으로 생각된다. 본 실험에서는 Z선의 구성성분으로서 그 변성정도가 빠른 것으로 알려진 zeugmatin을 이용하여, 이 단백질의 항체를 제조해서 간접면역형광법으로 식육의 숙성중 zeugmatin의 변화를 알아 보았다. Fig. 5에서 나타낸 것과 같이 zeugmatin과 반응하는 항체의 양을 나타내는 형광강도가 도살 후 6시간까지는 거의 변화하지 않았으나 그 이후부터 24시간 사이에 급격히 약화되었고 그 이후는 커다란 변화가 없었다. 이 변화는 근원섬유의 소편화도 즉, Z선의 약화도(Fig. 4)와 일치하는 것으로 이로 미루어 근원섬유의 Z선을 구성하여 접착하는 역할을 담당하면서 Z선의 구조를 강하게 지탱하고 있던 zeugmatin이 도살 후 시간이 경과함에 따라 내부 또는 외부의 여러 원인에 의해 분해, 유리 등의 변성을 일으켜 Z선으로부터 이탈

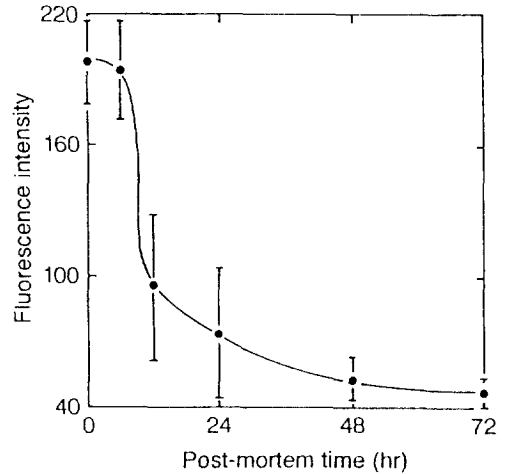


Fig. 5. Post-mortem changes in the amount of zeugmatin

함에 따라 Z선의 구조가 약화되어 물리적 충격에 이기지 못하고 붕괴되어 결과적으로 근원섬유가 소편화되는 것으로 생각된다. Zeugmatin은 발생시 근원섬유가 형성되기 이전에 Z선의 초기적 구조를 형성하는 것으로 알려져 있어⁽¹⁰⁾, 이 단백질이 Z선의 구조유지에 중대한 역할을 담당하는 것으로 생각되어진다. 또한 식육의 숙성중 야기되는 근원섬유의 소편화와 zeugmatin의 숙성중 변화가 일치하는 점을 생각할 때, 식육의 숙성중에 일어나는 근원섬유 Z선의 구조약화로 인해 야기되는 근원섬유의 소편화에 Z선의 구성단백질중 zeugmatin이 깊이 관여하고 있음이 밝혀졌으므로 zeugmatin의 변화정도는 근원섬유 Z선의 구조변화 정도 즉, 근원섬유의 소편화도 및 나아가 숙성중 식육의 연화정도를 가늠하는 척도로서 사용될 수 있으며, zeugmatin의 도살 후 변화정도는 간접면역형광법을 이용하여 용이하게 관찰, 판단할 수 있었다.

요 약

본 연구에서는 숙성 중 야기되는 식육의 연화정도를 파악할 수 있는 척도로서 이용하기 위하여, 근원섬유 Z선의 구성단백질의 하나인 zeugmatin에 대한 항체를 조제, 간접면역형광법으로 zeugmatin의 숙성중 변화와 근원섬유의 소편화와의 관계를 알아 보았다.

Zeugmatin은 변성하기 쉬운 단백질로서 재래식 방법으로는 정제가 불가능하므로 이 단백질을 함유하는 획분을 정제과정 중에 채취하여 전기영동으로 전개, 이에 해당하는 band를 분리하여 polyclonal항체를 용

이하계 얻을 수 있었으며, 이 조제된 항체는 zeugmatin과 특이적으로 반응하였다. 조제된 항체를 이용하여 간접면역형광법으로 식육의 숙성중에 zeugmatin의 변화와 근원섬유의 소편화로 나타나는 식육의 연화와의 상관관계를 알아본 결과, 이 두가지 변화는 특이적으로 일치하였다. 즉, 닭의 흉근을 4°C에서 숙성하면서 측정된 근원섬유의 소편화도는 도살 후 6시간에서 24시간 사이에 급격히 증가하여 이 시간대에 식육이 급속히 부드러워짐을 나타내었고, zeugmatin에 대한 항체가 나타내는 형광광도도 도살 후 6시간에서 24시간 사이의 동일한 시간대에 급격히 약화되어 zeugmatin이 이 시간대에 급속히 변화하였음을 나타내었다.

이상의 결과로 근원섬유 Z선의 구성단백질 중 하나인 zeugmatin은 숙성에 따라 야기되는 식육의 연화정도, 즉 식육의 숙성도를 나타내는 척도로서 이용될 수 있으며, 그 이용 방법으로는 간접면역형광법이 가장 간편한 방법인 것으로 판단되었다.

감사의 글

본 연구를 수행함에 있어 기술적, 물질적인 도움을 주신 日本 北海道大學 農學部 畜産科學科 畜産食品開發學講座의 高橋 興威 教授, 服部 昭仁 助教授 및 辰巳 隆一 助手에 진심으로 감사 드립니다.

문헌

1. Lawrie, R.A. In *Meat Science*. 3rd ed., Pergamon Press, London (1979)
2. Szczeniak, A.S. and Kleyn, D.H.: Consumer awareness of texture and other food attributes. *Food Technol.*, **17**, 74 (1963)
3. Bailey, A.J.: The basis of meat texture. *J. Food Sci. Agric.* **23**, 995 (1972)
4. Liu, A., Nishimura, T. and Takahashi, K.: Structural weakening of intramuscular connective tissue during post mortem aging of chicken *Semitenidinosus* muscle. *Meat Sci.* **39**, 135 (1995)
5. Herring, H.K., Cassens, R.G. and Briskey, E.T.: Sarcomere length of free and restrained bovine muscles at low temperature as related to tenderness. *J. Sci. Food Agric.* **16**, 379 (1965)
6. Takahashi, K. and Saito, H.: Post-mortem changes in skeletal muscle connectin. *J. Biochem.* **85**, 1539 (1979)
7. Locker, R.H., Daines, G.T., Carse, W.A. and Leet, N.G.: Meat tenderness and the gap filaments. *Meat Sci.* **1**, 87 (1977)
8. Takahashi, K. Hattori, A., Tatsumi, R. and Takai, K.: Calcium-induced splitting of connectin filaments into neta-connectin and a 1,200-kDa subfragment. *J.*

- Biochem.* **111**, 778 (1992)
9. Wang, K. In *Cell and Muscle Motility*. Shay, J.W. (Ed.), Vol. 6, Plenum Press, New York and London, p.315, (1985)
10. Takahashi, K. Fukazawa, T. and Yasui, T.: Formation of myofibrillar fragments and reversible contraction of sarcomeres in chicken pectoral muscle. *J. Food Sci.* **32**, 409 (1967)
11. Hattori, A. and Takahashi, K.: Studies on the post-mortem fragmentation of myofibrils. *J. Biochem.* **85**, 47 (1979)
12. Hattori, A. and Takahashi, K.: Calcium-induced weakening of skeletal muscle Z-disks. *J. Biochem.* **92**, 381 (1982)
13. Moller, A.J., Vestrgaard, T. and Wismer-Pedersen, J.: Myofibril fragmentation in Bovin Longissimus Dorsi as an index of tenderness. *J. Food Sci.* **38**, 824 (1973)
14. Olson, D.G., Parrish, F.C.Jr. and Stromer, M.H.: Myofibril fragmentation and shear resistance of three bovine muscles nduring postmortem storage. *J. Food Sci.* **41**, 1036 (1976)
15. Fukazawa, T. and Yasui, T.: The Change in zigzag configuration of the Z-line of myofibrils. *Biochim. Biophys. Acta* **140**, 534 (1967)
16. Parrish, F.C.Jr., Young, R.B., Miner, B.E. and Anderson, L.D.: Effect of postmortem conditions on certain chemical, morphological and oraganoleptic properties of bovine muscle. *J. Food Sci.* **38**, 690 (1973)
17. Calkins, C.R. and Davis, G.W.: Fragmentation index of raw muscle as a tenderness predictor of steaks from us good and us standard steer and bullock carcasses. *J. Animal Sci.* **50**, 1067 (1980)
18. Takahashi, K. and Hattori, A.: α -Actinin is a component of the Z-filament, a structural backbone of skeletal muscle Z-disks. *J. Biochem.* **105**, 529 (1989)
19. Kelly, D.E. and Cahill, M.A.: Filamentous and matrix components of skeletal muscle Z-disks. *Anat. Rec.* **172**, 623 (1972)
20. Chowrashi, P.K. and Pepe, F.A.: The Z-Band: 85,000-dalton amorphin and alpha-actinin and their relation to structure. *J. Cell Biol.* **94**, 565 (1982)
21. Ohashi, K. and Maruyama, K.: A new structural protein located in the Z lines of chicken skeletal muscle. *J. Biochem.* **85**, 1103 (1979)
22. Kuroda, M., Tanaka, T. and Masaki, T.: Eu-actinin, a new structural protein of the Z-line of striated muscle. *J. Biochem.* **89**, 297 (1981)
23. Maruyama, K., Kuroda, M. and Nonomura, Y.: Association of chicken pectoralis muscle phosphorylase with the Z-line and the M-line of myofibrils: composition with 'amorphin', the amorphous component of the Z-line. *Biochim. Biophys. Acta* **829**, 229 (1985)
24. Maruyama, K., Kimura, S., Ishi, T., Kuroda, M., Ohashi, K. and Muramatsu, S.: β -Actinin, a regulatory protein of muscle. *J. Biochem.* **81**, 215 (1977)
25. Atomi, Y., Yamada, S., Strohman, R. and Nonomura, Y.: B-Crystallin in skeletal muscle: Purification and localization. *J. Biochem.* **110**, 812 (1991)
26. Lazarides, E. and Granger, B.L.: Fluorescent localization of membrane sites in glycerinated chicken skeletal mus-

- cle fibers and the relationship of these sites to the protein composition of the Z disc. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **75**, 3683 (1978)
27. Franke, W.W., Schmid, E., Osborn, M. and Weber, K.: Different intermediate-sized filaments distinguished by immunofluorescence microscopy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **75**, 5034 (1978a)
28. Granger, B.L. and Lazarides, E.: Desmin and vimentin exist at the periphery of the myofibril Z disc. *Cell* **18**, 1053 (1979)
29. Bechtel, P.: Identification of a high molecular weight actin-binding protein in skeletal muscle. *J. Biol. Chem.* **254**, 1755 (1979)
30. Maher, P.A., Cox, G.F. and Singer, S.J.: Zeugmatin: A new high molecular weight protein associated with Z lines in adult and early embryonic striated muscle. *J. Cell Biol.* **101**, 1871 (1985)
31. Fukami, K., Furuhashi, K., Inagaki, M., Endo, T., Hatanoto, S. and Takenawa, T.: Requirement of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate for α -actinin function. *Nature* **359**, 150 (1992)
32. Towbin, H., Staehelin, T. and Gordon, J.: Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheet: Procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**, 4350 (1979)
33. Etlinger, J.D., Zak, R. and Fischman, D.A.: Compositional studies of myofibrils from rabbit striated muscle. *J. Cell Biol.* **68**, 123 (1976)
34. Coons, A.H., Creech, H.J., Jones, R.N. and Berliner, E.: Localization of antigen in tissue cells. *J. Immunol.* **45**, 159 (1942)
35. White, J.G., Amos, W.B. and Fordham, M.: An evaluation of confocal versus conventional imaging of biological structures by fluorescence light microscopy. *J. Cell Biol.* **105**, 41 (1987)
36. Gonall, A.G., Bardawill, C.J. and David, M.M.: Determination of serum proteins by means of the Biuret reaction. *J. Biol. Chem.* **177**, 751 (1949)
37. Takahashi, K., Kim, O.H. and Yano, K.: Calcium-induced weakening of Z-disks in postmortem skeletal muscle. *J. Biochem.* **101**, 767 (1987)

(1996년 3월 14일 접수)